

Penyaringan aktiviti antimikrob sabut dan tempurung kelapa MATAG

(Screening of antimicrobial activity of MATAG coconut coir and shell)

Mohd Effendi Mohamed Nor, Norma Hussin, Muhammad Faidhi Towhid dan Asraf Hadi Abu Samah

Pengenalan

Kelapa atau nama saintifiknya *Cocos nucifera* L. merupakan pokok tanaman daripada famili Arecaceae yang natif di negara-negara Asia Tenggara, India dan Amerika Selatan. Pokok kelapa dikenali sebagai 'pokok kehidupan' kerana kegunaannya yang pelbagai bukan sahaja pada buah, tetapi keseluruhan pokok yang mempunyai pelbagai kegunaan untuk makanan, kosmetik, perubatan, bahan pembinaan, polimer, kraf tangan, fiber, bahan bakar dan sebagainya. Sebanyak RM50 juta diperuntukan oleh kerajaan Malaysia melalui Kementerian Pertanian dan Industri Asas Tani ketika itu bagi membangunkan industri kelapa negara di bawah skim Sumber Kekayaan Baharu yang dijenamakan semula sebagai Sumber Rezeki Baru negara. Penggunaan per kapita kelapa di Malaysia adalah sekitar 19 kg/tahun, manakala penggunaan domestik adalah sebanyak 750,000 tan metrik setahun dan dijangka meningkat setiap tahun.

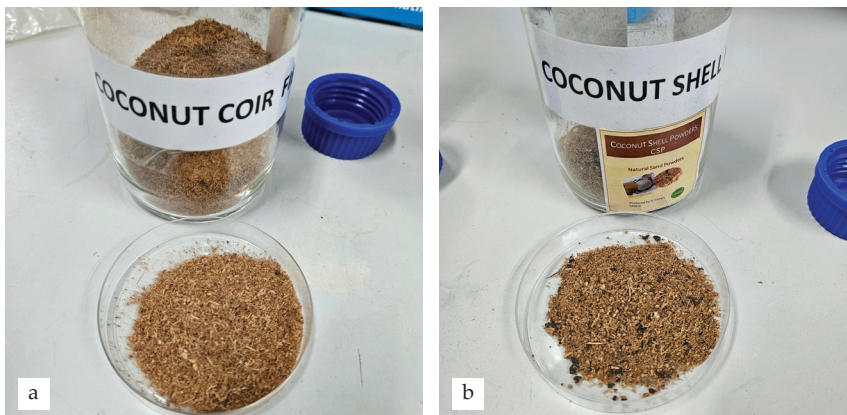
Buah kelapa terdiri daripada beberapa bahagian atau lapisan dengan lapisan paling luar dikenali sebagai mesokarpa yang terbita daripada kulit dan sabut. Lapisan kedua pula dikenali sebagai endokarpa, lapisan paling keras iaitu tempurung. Di bawah tempurung adalah lapisan endosperm iaitu isi kelapa. Kira-kira 60% buangan domestik pertanian adalah daripada sabut dan tempurung kelapa. Sabut dan tempurung kelapa telah dibuktikan mempunyai pelbagai jenis sebatian fitokimia yang bertanggungjawab memberi sifat dan aktiviti biologi seperti antioksidan, antibakteria, antivirus, antikulat dan antileishmania. Antara sebatian fitokimia yang hadir dalam sabut dan tempurung kelapa ialah tanin, saponin, steroid, lignin, asid lemak tepu dan tak tepu, pentosan, selulosa, *catechin* dan *epicatechin*. Kelapa MATAG merupakan antara hibrid kelapa baharu negara yang merupakan kacukan antara hibrid kelapa Malaysia Yellow Dwarf atau Malaysia Red Dwarf dengan kelapa Tagnanan dari Filipina.

Penerokaan dan kajian dalam mencari sumber agen antimikrob baharu semakin meningkat sementelah peningkatan kes kerintangan mikrob terhadap antibiotik komersial dan ubatan sintetik. Mikroorganisma rintang antibiotik merupakan masalah yang serius dalam bidang perubatan yang menyukarkan proses rawatan penyakit yang disebabkan oleh mikrob. Permintaan terhadap agen antimikrob yang semula jadi dan lebih selamat juga menyumbang kepada penerokaan sumber-sumber baharu.

Pertubuhan Kesihatan Dunia (WHO) dan Pentadbiran Makanan dan Ubatan (FDA) telah menyarankan dan membenarkan penggunaan bahan semula jadi daripada alam persekitaran terutamanya tumbuhan untuk tujuan perubatan, pemprosesan makanan dan kosmetik.

Pengumpulan dan pengekstrakan sabut dan tempurung kelapa

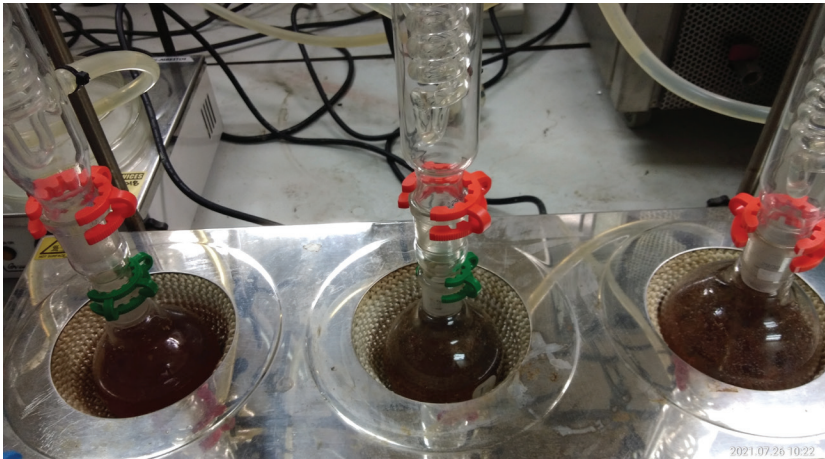
Sabut dan tempurung kelapa MATAG diperoleh dari MARDI Bagan Datuk, Perak, dikumpul dan dikeringkan di bawah cahaya matahari selama tiga hari. Sabut dan tempurung yang telah kering dikisar dalam pengisar industri IKA sehingga menjadi serbuk (*Gambar 1*). Pengekstrakan serbuk sabut dan tempurung dilakukan menggunakan tiga jenis pelarut berbeza iaitu aseton, etanol dan metanol. Sebanyak 10 g serbuk dimasukkan ke dalam kelalang bulat bersaiz 250 mL sebelum ditambah dengan 200 mL larutan aseton, etanol dan metanol secara berasingan (*Gambar 2*). Semua kelalang bulat yang mengandungi pelarut dan serbuk dipanaskan sehingga mendidih di bawah refluks selama 24 jam (*Gambar 3*). Selepas proses pendidihan, larutan ditapis menggunakan kertas turas Whatmann no. 4. Tapisan kemudian dikeringkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60 °C dalam keadaan vakum. Ekstrak yang telah kering ditimbang berat sebelum dilarutkan semula dengan larutan *dimethyl sulfoxide* (DMSO) menjadikan kepekatan ekstrak 100 mg/mL. Ekstrak disimpan pada suhu 5 °C untuk analisis selanjutnya.



Gambar 1. (a) Serbuk sabut dan (b) Serbuk tempurung



Gambar 2. Serbuk sabut dan tempurung di dalam larutan pelarut



Gambar 3. Serbuk sabut dan tempurung dalam pelarut dipanaskan di atas mantel pemanasan

Penentuan aktiviti antimikrob ekstrak sabut dan tempurung kelapa

Analisis antimikrob dijalankan menggunakan teknik resapan cakera (*disc diffusion technique*) berdasarkan kaedah Bauer et al. (1966) terhadap lima jenis bakteria patogenik iaitu *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Cronobacter sakazakii* ATCC 29544, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Listeria innocua* ATCC 33090 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Kelima-lima patogen ini dihidupkan dalam 9 mL larutan kaldu nutrien dan dieram dalam inkubator pada suhu 37 °C semalaman sebelum analisis dijalankan. Larutan inokulum bakteria yang telah dihidupkan dicairkan menggunakan larutan *Ringers* yang steril bagi mendapatkan kekeruhan inokulum setara kekeruhan standard McFarland 0.5. Sebanyak 100 μ L inokulum bakteria dipindahkan ke atas agar Mueller Hinton (MH) yang steril di dalam piring Petri yang telah disediakan lebih awal dan diratakan menggunakan *cotton swab* yang steril. Cakera resapan (*susceptible blank disc*) diletakkan di atas agar MH. Sebanyak 20 μ L ekstrak sabut dan tempurung setiap pelarut dititiskan ke atas cakera tersebut dan dibiarkan meresap. Cakera yang mengandungi antibiotik komersial iaitu *Penicillin* 0.5 μ g (Oxoid) dijadikan sampel kawalan. Semua piring Petri dieram dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 24 jam. Sebarang pembetulan zon perencatan di sekeliling cakera di atas agar MH selepas 24 jam diukur dan dicatatkan (Gambar 4).



Gambar 4. Zon perencatan pertumbuhan patogen kajian di atas agar MH selepas 24 jam pengeraman dalam inkubator

Penentuan kepekatan perencatan minimum ekstrak sabut dan tempurung kelapa

Penentuan kepekatan perencatan minimum [*minimum inhibitory concentration (MIC)*] setiap ekstrak pelarut sabut dan tempurung dijalankan menggunakan kaedah *microdilution*.

Ekstrak berkepekatan 100 mg/mL daripada analisis resapan cakera dilakukan pencairan bersiri berganda bagi mendapatkan julat kepekatan ekstrak 0.19 – 100 mg/mL. Sebanyak 100 μ L daripada setiap kepekatan dipipetkan ke dalam plat mikro telaga 96 sebelum ditambah dengan 100 μ L inokulum bakteria daripada analisis sebelumnya. Plat mikro kemudian dieram dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 24 jam. Larutan dalam setiap telaga plat mikro diperhatikan jika terdapat kekeruhan yang boleh dilihat atau tidak selepas 24 jam. Kepekatan ekstrak terendah yang tidak menunjukkan sebarang kekeruhan (tiada pertumbuhan bakteria) direkodkan sebagai MIC.

Hasil kajian

Aktiviti antimikrob ekstrak tempurung dan sabut kelapa MATAG ditunjukkan sebagai diameter zon perencatan pertumbuhan bakteria patogen kajian di atas medium pertumbuhan agar Mueller Hinton (MH) seperti dalam *Jadual 1*. Semua ekstrak tempurung dan sabut dalam pelarut berbeza mempamerkan aktiviti antimikrob yang baik dan berpotensi dengan merencat pertumbuhan strain bakteria dengan saiz zon perencatan yang berbeza-beza iaitu antara 7.50 – 11.75 mm bagi ekstrak tempurung dan 9.25 – 17.00 mm bagi ekstrak sabut. Diameter zon perencatan yang melebihi 7 mm menandakan ekstrak mempunyai aktiviti antimikrob. Diameter zon perencatan paling besar ditunjukkan oleh ekstrak etanol sabut terhadap strain *S. aureus* iaitu 17 mm. Bagi ekstrak tempurung, perencatan paling besar ditunjukkan oleh ekstrak metanol terhadap strain *E. aerugenes* dan *L. innocua* dengan diameter perencatan 11.75 mm dan 11.25 mm. Perencatan paling rendah pula ditunjukkan pada ekstrak etanol tempurung terhadap *B. cereus* dan *C. sakazakii* dengan diameter perencatan 7.75 dan 7.50 mm. Walaupun antibiotik komersial *Penicillin* mempamerkan aktiviti yang lebih baik, terdapat kesetaraan aktiviti antimikrob dengan *Penicillin* dalam ekstrak aseton tempurung terhadap *B. cereus*, ketiga-tiga ekstrak sabut terhadap *B. cereus* dan ekstrak metanol tempurung dan ekstrak aseton sabut terhadap *E. aerugenes*.

Dalam kajian antimikrob, nilai kepekatan perencatan minimum (MIC) menentukan kepekatan paling rendah ekstrak yang boleh merencat pertumbuhan mikrob. Hasil analisis mendapati julat nilai MIC bagi ekstrak serbuk tempurung dan sabut masing-masing ialah 0.78 – 50 mg/mL dan 1.56 – 50 mg/mL. Ekstrak metanol dan aseton kedua-dua serbuk tempurung dan sabut mempamerkan nilai MIC paling rendah iaitu masing-masing 0.78 mg/mL dan 1.56 mg/mL terhadap strain *E. aerugenes* berbanding dengan ekstrak etanol (3.12 mg/mL). Ekstrak metanol dan aseton serbuk tempurung juga menunjukkan nilai MIC yang lebih rendah (12.50 mg/mL) berbanding dengan ekstrak etanol (50 mg/mL) terhadap strain *B. cereus*. Tiada perbezaan nilai MIC antara ketiga-tiga jenis ekstrak tempurung terhadap *S. aureus* dan juga ekstrak sabut bagi perencatan strain *S. aureus*

dan *B. cereus*. Bagaimanapun, semua ekstrak sabut mempamerkan nilai MIC (6.25 mg/mL) yang lebih rendah berbanding dengan ekstrak tempurung (12.50 mg/mL) terhadap *S. aureus*. Sabut dan tempurung kelapa telah dibuktikan melalui kajian mempunyai aktiviti antimikrob. Terdapat kajian yang menentukan aktiviti antimikrob ekstrak sabut terhadap 24 jenis bakteria patogen antaranya *E. coli*, *S. aureus*, *S. faecalis*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris* dan *E. faecalis* dengan diameter zon perencatan antara 11 – 20 mm bagi ekstrak akuas dan 12 – 18 mm bagi ekstrak heksana. Manakala kajian oleh penyelidik dari India melaporkan aktiviti antimikrob ekstrak tempurung kelapa terhadap bakteria patogen *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* dan *M. luteus* dengan diameter zon perencatan bersaiz 11 – 16 mm.

Aktiviti biologi seperti antioksidan, antiradang, antivirus dan antimikrob bahan tanaman selalunya disebabkan oleh kehadiran sebatian fenolik dan fitokimia di dalam sel-sel sesuatu tanaman. Sabut dan tempurung kelapa telah dibuktikan mengandungi sebatian tannin, saponin, steroid, lignin, asid lemak tepu dan tidak tepu, pentosan, selulosa, *catechin* dan *epicathecin*. Kajian fitokimia pada fiber kelapa daripada sabut dan tempurung mendapati ekstrak etanol mengandungi fenol, tannin, leukoanthosianidin, flavonoid, triterpene, steroid dan alkaloid. Perbezaan kekuatan aktiviti antimikrob yang ditunjukkan dalam saiz diameter perencatan dan kepekatan perencatan minimum (MIC) menggambarkan kekuatan dan perbezaan sebatian fitokimia dalam ekstrak tumbuhan selain perbezaan sifat dan ciri-ciri morfologi setiap mikrob.

Jadual 1. Diameter perencatan pertumbuhan patogen di atas agar Mueller Hinton oleh ekstrak sabut dan tempurung kelapa MATAG

Ekstrak	Diameter zon perencatan (mm)				
	<i>B. cereus</i>	<i>C. sakazakii</i>	<i>E. aerugenes</i>	<i>L. innocua</i>	<i>S. aureus</i>
Tempurung					
Ekstrak etanol	7.75 ± 0.05c	7.50 ± 5.00a	10.00 ± 0.81c	9.25 ± 0.95d	9.75 ± 0.50c
Ekstrak metanol	9.00 ± 1.14bc	9.50 ± 0.57a	11.75 ± 0.50ab	11.25 ± 0.50b	10.25 ± 1.25c
Ekstrak aseton	10.00 ± 0.00ab	9.50 ± 0.57a	10.75 ± 0.95bc	10.50 ± 1.00bc	11.00 ± 1.63c
Sabut					
Ekstrak etanol	10.50 ± 1.29ab	9.25 ± 0.50a	10.25 ± 0.95bc	9.50 ± 0.57cd	17.00 ± 3.74b
Ekstrak metanol	9.75 ± 0.50ab	10.25 ± 1.25a	10.25 ± 0.50bc	10.25 ± 0.50bcd	11.00 ± 0.00c
Ekstrak aseton	10.50 ± 0.57ab	9.75 ± 0.50a	11.50 ± 1.29abc	10.25 ± 0.50bcd	11.00 ± 0.81c
<i>Penicillin</i>	11.00 ± 0.00a	0b	12.50 ± 0.70a	13.00 ± 0.00a	43.50 ± 0.70a

Nilai min diikuti abjad yang sama menandakan perbezaan tidak signifikan

Jadual 2. Kepekatan perencatan minimum (MIC) ekstrak sabut dan tempurung kelapa MATAG

Ekstrak	MIC (mg/mL)		
	<i>S. aureus</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>B. cereus</i>
Tempurung			
Ekstrak etanol	12.50	3.12	50.00
Ekstrak metanol	12.50	0.78	12.50
Ekstrak aseton	12.50	0.78	12.50
Sabut			
Ekstrak etanol	6.25	3.12	50.00
Ekstrak metanol	6.25	1.56	50.00
Ekstrak aseton	6.25	1.56	50.00

Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisis yang telah dijalankan, didapati sabut dan tempurung kelapa MATAG mempunyai aktiviti antimikrob yang baik dan berpotensi terhadap bakteria patogenik. Kajian lebih lanjut dan mendalam perlu dilakukan untuk mengetahui lebih lanjut tentang kandungan fitokimia di dalam sabut dan tempurung kelapa yang menyumbang kepada aktiviti antimikrob seterusnya membangunkan agen antimikrob baharu berpotensi daripada sabut dan tempurung kelapa.

Penghargaan

Pengarang mengucapkan terima kasih kepada semua yang terlibat dalam menyiapkan aktiviti kajian ini dari peringkat penyediaan bahan mentah sehingga ke peringkat analisis di makmal. Aktiviti penyelidikan ini dibiayai oleh dana Projek Pembangunan Rancangan Malaysia Ke-12 (RMK-12) PIC-507.

Bibliografi

- Akinyele, T. A., Okoh, O. O., Akinpelu, D. A., & Okoh, A. I. (2011). In-vitro antibacterial properties of crude aqueous and *n*-hexane extracts of the husk of *Cocos nucifera*. *Molecules*, 16(3), 2135–2145.
- Bauer, A.W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45(4), 493–496.
- Cyriac, M. B., Pai, V., Shantaram, M., & Jose, M. (2013). Antimicrobial properties of coconut husk aqueous extract on cariogenic bacteria. *Archives of Medicine and Health Sciences*, 1(2), 126–130.

- Esquenazi, D., Wigg, M. D., Miranda, M. M., Rodrigues, H. M., Tostes, J. B., Rozental, S., Da Silva, A. J. R., & Alviano, C. S. (2002). Antimicrobial and antiviral activities of polyphenolics from *Cocos nucifera* Linn. (Palmae) husk fibre extract. *Research in Microbiology*, 153(10), 647–652.
- Mazaya, G., Karseno, K., & Yanto, T. (2020). Antimicrobial and phytochemical activity of coconut shell extracts. *Turkish Journal of Agricultural – Food Science and Technology*, 8(5), 1090–1097.

Ringkasan

Aktiviti kajian ini bertujuan menentukan aktiviti antimikrob sabut dan tempurung kelapa. Sabut dan tempurung daripada kelapa hibrid MATAG telah dikumpul, dikeringkan di bawah cahaya matahari dan diekstrak menggunakan tiga jenis pelarut berbeza iaitu aseton, etanol dan metanol. Aktiviti antimikrob ekstrak sabut dan tempurung ditentukan menggunakan kaedah resapan cakera terhadap lima jenis bakteria patogenik iaitu *Bacillus cereus*, *Cronobacter sakazakii*, *Enterobacter aerogenes*, *Listeria innocua* dan *Staphylococcus aureus*. Keputusan analisis yang diperolehi menunjukkan ekstrak sabut dan tempurung kelapa MATAG mempunyai potensi aktiviti antimikrob terhadap semua strain patogen yang diuji dengan julat saiz zon perencatan pertumbuhan bermula daripada 7.75 – 11.25 mm untuk ekstrak tempurung dan 9.25 – 17.00 mm untuk ekstrak sabut. Penggunaan pelarut yang berbeza dalam pengekstrakan mempengaruhi aktiviti antimikrob ekstrak sabut dan tempurung terhadap patogen tertentu. Aktiviti antimikrob tertinggi diperhatikan dalam ekstrak etanol sabut terhadap *S. aureus*, manakala aktiviti paling rendah adalah terhadap *C. sakazakii* dalam ekstrak etanol tempurung. Ekstrak metanol dan aseton untuk kedua-dua tempurung dan sabut mempamerkan kepekatan perencatan minimum yang lebih rendah berbanding dengan ekstrak etanol. Dengan hasil kajian ini, diharapkan sabut dan tempurung kelapa dapat dikaji dengan lebih mendalam dan diproses menjadi agen antimikrob yang berpotensi.

Summary

This research activity aims to determine the antimicrobial activity of coir and coconut shell. Coir and shell from MATAG hybrid coconuts were collected, dried under sunlight and extracted using three different solvents namely acetone, ethanol and methanol. The antimicrobial activity of coir and shell extracts was determined using the disc diffusion method against 5 strains of pathogenic bacteria namely *Bacillus cereus*, *Cronobacter sakazakii*, *Enterobacter aerogenes*, *Listeria innocua* and *Staphylococcus aureus*. The analysis results obtained show that MATAG coconut coir and shell extracts have potential antimicrobial activity against all pathogen strains tested with a growth inhibition zone size range starting from 7.75 – 11.25 mm for coir extract and 9.25 – 17.00 mm for coir extract. The use of different solvents in extraction affects the antimicrobial activity of coir and shell extracts against certain pathogens. The highest antimicrobial activity was observed in the coir ethanol extract against *S. aureus*, while the lowest activity was against *C. sakazakii* in the shell ethanol extract. Methanol and acetone extracts for both shell and coir exhibited lower minimum inhibitory concentrations compared to ethanol extracts. With the results of this study, it is hoped that coir and coconut shell can be studied in more depth and processed into potential antimicrobial agents.

Pengarang

Mohd Effendi Mohamed Nor

Pusat Penyelidikan Tanaman Industri, Ibu Pejabat MARDI

Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor

E-mel: effendi@mardi.gov.my

Norma Hussin (Dr.), Muhammad Faidhi Towhid dan Asraf Hadi Abu Samah

Pusat Penyelidikan Tanaman Industri, Ibu Pejabat MARDI

Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor